

**دانشگاه علوم پزشکی قزوین**

**دانشکده پیراپزشکی، گروه بیوتکنولوژی پزشکی**

**پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد**

**عنوان:**

**"بررسی اثر داروی پارتنولاید در تکثیر و بقای لوکمی حاد لنفوسیت T از طریق ارزیابی بیان ژن استئوپنتین"**

**استاد راهنما:**

**دکتر مهدی زاهدپناه—دکتر سعید محمدی**

**استاد مشاور:**

**دکتر محسن نیکبخت—دکتر مهدی سهمانی**

**نگارش:**

**سارامهری**

## چکیده

**مقدمه:** لوسمی حاد لنفوییدی (ALL) نوعی بدخیمی بافت خون ساز بدن است که در آن تعداد زیادی از لنفوسیت‌ها ی تکامل نیافته، دچار اختلال شده و تعداد آنها در خون محیطی و مغز استخوان افزایش می یابد. درمان هدفمند از طریق مداخله در مسیرهای مولکولی به مرگ سلول سرطانی منجر می شود اما متأسفانه اغلب بیماران با بهبودی کامل، طول عمر کوتاهی دارند و میزان بقای کلی آنها فقط ۳۰ تا ۴۰ درصد است. پارتنولاید (PTL) از طریق طیف وسیعی از پاسخ ها، مانند مهار NF-kB، فعال سازی P53 و افزایش واکنش پذیری گونه های اکسیژن آپتوز رافعال می کند. اوستئوپونتین (OPN) در تنظیم سیگنالینگ سلولی که تغییرات نئوپلاستی و بدخیم را کنترل میکند، مشارکت محوری دارد و در ایجاد مقاومت دارویی نسبت به عوامل ضد سرطانی موثر است **هدف:** در مطالعه حاضر قابلیت زیستی و بقای سل لاین لوکمی لنفوییدی حاد (jurkat) در تیمار با PTL ارزیابی گردید و برخی تغییرات مولکولی موثر در مقاومت سلولی به ویژه OPN بررسی شدند. **مواد و روش ها:** سلول های لنفوییدی حاد لوکمی انسانی با PTL تیمار شدند؛ سپس با استفاده از تست MTT، پس از مشخص شدن دوز دارو (۱۵ میکرومولار)، قابلیت زیستی و بقا ارزیابی شد. با توجه به نقش مقاومتی OPN، از کیت siRNA و تکنیک ترانسفکشن برای جلوگیری از بیان OPN استفاده شد. رنگ آمیزی AV/PI برای تعیین نوع مرگ سلولی القا شده انجام شد. نسخه برداری از ژن و بیان پروتئین OPN توسط qRT-PCR اندازه گیری شد. **یافته ها:** پارتنولاید نقش مهمی در القای آپتوزیس و مهار رشد در سلولهای لوکمی لنفوییدی حاد نشان داد و بیان OPN را در این سلول ها کاهش داد اما مهار OPN با siRNA تاثیر چندانی بر اثرات سایتوتوکسیک PTL بر روی سلولها نداشت. **نتیجه گیری:** پارتنولاید باعث القای آپتوزیس و کاهش بیان OPN در سلولهای Jurkat میشود، اما ممانعت از بیان OPN تاثیری بر قابلیت زیستی و درصد سلول های آپتوتیک ندارد.

واژگان کلیدی: لوکمی لنفوییدی حاد، پارتنولاید، اوستئوپونتین، Jurkat

## **Abstract:**

**Background:** Osteopontin (OPN) has critical involvement in cell proliferation, survival and drug resistance in cancer treatment and hematological malignancies.

The oncogenic roles of OPN might be regulated through different OPN isoforms such as OPN-a, OPN-b and OPN-c.

in T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL), most initial therapies can induce remission but some patients then relapse and do not respond well to chemotherapy.

The sesquiterpene lactone parthenolide can induce apoptosis in a variety of cancer cell lines via inhibition of pro-inflammatory transcription factor NF-Kb and has anti-tumor activity in ALL treatment.

**Methods:** jurkat cells (T ALL) were cultured in RPMI 1640 with concentrations of 8, 10,12, 15, and 20  $\mu$ M PTL for 48hours for MTT assays to find effective doses and IC50 values. Due to OPN role in chemotherapy resistance we used

OPN siRNA as an inhibitor on the cell proliferation and induction of apoptosis.

Treated cells divided into two groups (with /without Si-RNA transfection) and Apoptosis assays were performed with Annexin V-Alexa Fluor-488/PI as Annexin V+/PI- and Annexin V+/PI+ to measure early and late apoptosis

. Quantitative real-time PCR was used to measure OPN gene expression using the 2- $\Delta\Delta$ Ct method

**Results:** according to MTT analyses Parthenolide has cytotoxic effect on jurkat cells with IC50 values of 15  $\mu$ M, and Death induction with PTL was apoptotic. Flow cytometry showed decrease in the percentage of alive cells in response to PTL but did not show a significant difference in opn-siRNA mediated group.

**Conclusions:** PTL induced apoptosis in jurkat cells, but inhibition of OPN gene expression with si-RNA, doesn't affect on percentage of apoptotic cells.

**Keywords:** T-ALL cell line jurkat, Osteopontin, Parthenolide

**Qazvin University of Medical Sciences  
Faculty of Medicine  
Department of Biotechnology**

**In partial fulfillment of the requirements for the Degree (MSc)**

**Title:**

**“Evaluation of Parthenolide effects on Proliferation of acute  
T cell lymphocyte leukemia cell line by evaluation of the expression  
of osteopontin”**

**Supervisors:**

**Dr.Mahdi Zahedpanah - Dr.Mahdi Sahmani**

**Advisors:**

**Dr.Saeed Mohammadi - Dr.Mohsen Nikbakht**

**By:**

**Sara Mehri Sookhtekoohi**

**Year:**

**2019**